Über den diagnostischen Wert
des
Impfversuchs bei Tuberculose
und ein
neues Verfahren zum mikroskopischen Nachweis von Tubercelbacillen im Harn.

Inaugural-Dissertation
der
hohen medicinischen Facultät der Universität Rostock
zur
Erlangung der Doctorwürde

vorgelegt
von
Emil de Vos
aus Singapore.

Rostock.
Universitäts-Buchdruckerei von Adler's Erben.
1891.

Referent:
Professor **A. Thierfelder.**

Im Jahre 1882 gelang es Robert Koch den specifischen Erreger der Tuberculose, nach welchem schon längere Zeit von den verschiedensten Forschern gesucht worden war, mit positiver Sicherheit nachzuweisen. Durch besondere Färbungsmethoden konnte er in der Tubercelmasse feine stäbchenartige Gebilde auffinden, von denen weitere Untersuchungen ergaben, dass sie organischer Natur waren und in ihrem sonstigen Verhalten sich wie die schon bekannten Milzbrandbacillen verhielten. Dass diese Gebilde in der That die lange gesuchten einzigen Erreger der Tuberculose waren, bewies Koch dadurch, dass er sie von dem erkrankten Organismus trennte und sie von allem säuberte, was sonstwie in dem Verdacht stehen konnte eine krankheiterregende Wirkung zu haben (und zwar geschah dieses durch Züchtung von Reinculturen auf Blutserum), und endlich dadurch, dass er durch Verimpfung von reinen Tubercelbacillen wiederum Tuberculose erzeugte. Es konnte nun der Satz aufgestellt werden: Ohne Tubercelbacillen keine Tuberculose.

Dieses Ergebnis bacteriologischer Untersuchung musste notwendig der Diagnostik in vielfacher Beziehung zu gute kommen, und kam ihr auch zu gute.

So wertvoll aber auch die Methode des mikroskopischen Nachweises der Tubercelbacillen in

diagnostischer Beziehung ist, so erleidet ihre Anwendbarkeit doch eine Reihe von Einschränkungen. Zunächst können selbstverständlich nur da Bacillen gesucht werden, wo es gelingt etwas von der der Tuberculose verdächtigen Substanz zur Untersuchung zu bringen. Sodann bringt der Umstand, dass die Tubercelbacillen nur mit starken Vergrösserungen deutlich erkannt werden, es mit sich, dass auch nur relativ geringe Mengen zu untersuchender Substanz auf ein Mal zur Untersuchung gelangen können, dass die Methode also nur da bequem und mit Vortheil anzuwenden ist, wo die fraglichen Bacillen in der zu untersuchenden Substanz in relativ grosser Zahl vorhanden sind, Dieses trifft in erster Linie bei der Lungenphthise zu, bei der in den ausgeworfenen Sputis die Tubercelbacillen in reicher Menge vorhanden zu sein pflegen, weshalb denn auch bei Verdacht auf Lungenschwindsucht jetzt wol kaum mehr die Anwendung dieses diagnostischen Hilfsmittels versäumt wird. Aber schon hier giebt es Fälle genug, in denen trotz oftmaliger und sorgfältiger Untersuchung der Sputa keine Tubercelbacillen gefunden werden. Noch schlechter steht es bei den sogenannt chirurgischen Erkrankungen, bei denen man den Tubercelbacillus als aetiologisches Moment vermutet. Bei einer grossen Anzahl jener Erkrankungen, sind wir, wenn nicht durch grössere chirurgische Eingriffe die erkrankten Theile frei gelegt werden, nicht in der Lage, uns geeignetes Material zur Untersuchung zu verschaffen. In Fällen, wo die Diagnose durch andere klinische Symptome gesichert ist, und erst recht in Fällen, wo die Therapie von der Sicherstellung der Diagnose nicht beeinflusst wird, mag man sich über den Mangel an Hilfsmitteln zum Nachweis des Krankheitserregers trösten und sich mit der nachträglichen Feststellung des Charakters

der Erkrankung begnügen. In solchen Fällen aber, wo die Behandlung, oder mindestens der Erfolg der Behandlung, von der Sicherstellung und gar der möglichst frühzeitigen Sicherstellung der Diagnose abhängig ist, da muss man den Mangel auf das unangenehmste empfinden. Dieses trifft in besonders hohem Grade zu bei den tuberculösen Erkrankungen des uropoetischen Systems, im speciellen bei der Tuberculose der Niere.

Pathologisch-anatomische Untersuchungen (Steinthal) haben ergeben, dass ungefähr in der Hälfte aller Fälle von Nierentuberculose, die zur Section kamen, nur eine Niere erkrankt war. In den Fällen, in denen beide Nieren erkrankt waren, zeigte die eine Niere gewöhnlich sehr beträchtlich grössere Störungen als die andere. Nicht selten ist die Nierentuberculose eine primäre Tuberculose. Auf Grund dieser Erfahrungssätze hat man die chirurgische Behandlung der Nierentuberculose seit einigen Jahren begonnen und bereits sind mehrfach vollständige Heilungen durch die Nephrectomie erzielt worden. Nun liegt es aber auf der Hand, dass die Nephrectomie um so bessere Resultate erzielen wird, je frühzeitiger die Diagnose gestellt werden kann.

Um mit Sicherheit die tuberculöse Natur einer Nierenerkrankung feststellen zu können, bedarf es fast immer des Nachweises von Tubercelbacillen. Dieser Nachweis ist uns in vielen Fällen möglich gemacht dadurch, dass Tubercelbacillen aus der Niere in den Harn und mit diesem aus dem Körper ausgeschieden werden. Die Auffindung und der Nachweis der Bacillen im Harn ist aber eine schwierige, weil selbst in vorgeschrittenen Fällen relativ geringe Mengen von Tubercelbacillen in dem ausgeschiedenen Harne vorhanden sind. Dies wird einstimmig von den diesen Gegenstand behandelnden

Autoren ausgesprochen. Es ist deshalb begreiflich, dass man vielfach darnach getrachtet hat, eine bessere Methode zum Nachweis der im Urin vorhandenen Bacillen zu finden. Von mehreren Seiten ist dazu der Impfversuch in Vorschlag gebracht worden. Besonders nachdrücklich hat dies Koenig gethan. Er sagt (Lehrb. d. spec. Chir. 1889. Bd. II. S. 633):

„Sicher ist nur der Katarrh der Harnwege als tuberculöser anzusehen, wenn man wiederholt Bacillen darin nachgewiesen, oder wenn man den Harn auf das Auge, das Gelenk eines Thieres überimpft und dort Tuberculose hervorruft. Letzteres Beweismittel hat bei der Inconstanz der Bacillen heute noch dieselbe Bedeutung, welche es vor der Entdeckung des Bacillus hatte."

An einer anderen Stelle (S. 602), bei der Besprechung der Diagnose der Blasenerkrankungen, sagt derselbe Autor, nachdem er eine Reihe von weniger sicheren Merkmalen für die Tuberculose der Blase angeführt:

„Diesen mehr negativen Ergebnissen der Untersuchung gegenüber, giebt es nur zwei wirklich positive: der Nachweis des Tubercelbacillus (im Harn) und das klinische Experiment. So sehr wir den Tubercelbacillus anerkennen, so sehr müssen wir andererseits dabei bleiben, dass er (im Harn) so häufig fehlt, dass andere sichere Beweismittel sehr wünschenswert sind. Und ein solches Mittel ist die wiederholt ausgeführte Injection von etwas Harn in das Auge, das Gelenk, die Pleura oder Bauchhöhle eines Kaninchens. Schon lange vor der Entdeckung des Bacillus haben wir auf diesem Wege sichere Diagnosen gestellt und wir empfehlen ihn gerade heute auf das allerdringendste für die Fälle, in welchen die Bacillenuntersuchung Zweifel darüber lässt."

Wie Koenig, so schlagen auch einige andere Autoren die Impfung zu diagnostischen Zwecken bei der Nierentuberculose vor, so Eichhorst (Handb. d. spec. Pathol. u. Therapie) und Herczel in den Beiträgen z. klin. Chir. Bd. 6. S. 322. Dem letztgenannten Autor gelang es in fünf Fällen von exquisiter Nierentuberculose (wie die nachträgliche mikroskopische Untersuchung erwies) nur zwei Mal, Bacillen im Harn mikroskopisch nachzuweisen. Herczel sprach sich in folgender Weise aus: „Spricht schon der Mangel des Bacillennachweises im Harnsediment absolut nicht gegen eine Tuberculose des uropoetischen Systems, weil eben selbst bei Anfertigung zahlreicher Präparate nur minimale Bruchtheile des Bodensatzes zur Untersuchung kommen, so sichert selbst der positive Befund charakteristischer Bacillen nicht zur Genüge die Diagnose, seitdem Matterstock, Sloarez, Tavel, Lustgarten und Mannaberg unzweifelhaft bewiesen haben, dass die im Präputialsecret und in der Harnröhre verkommenden Smegmabacillen den aufgenommenen Anilinfarbstoff gegen Säuren ebenso resistent halten wie die Tubercelbacillen. Nur die Impfung des der Tuberculose verdächtigen Exkretes in die Bauchhöhle von Meerschweinchen oder Kaninchen giebt hier positiven Aufschluss".

So übereinstimmend hiernach von verschiedenen Seiten die Erzeugung von Impftuberculose als diagnostisches Hilfsmittel bei Erkrankungen des uropoetischen Systems empfohlen wird, so sind doch wirkliche praktische Erfahrungen bei ihrer Anwendung bisher nur äusserst spärlich veröffentlicht.

Es war mir von Herrn Professor Madelung die Aufgabe gestellt worden, über den Wert des Impfversuchs bei tuberculösen Erkrankungen des uropoetischen Systems experimentelle

Untersuchungen anzustellen. Dieser Aufgabe bin ich nachgekommen durch Arbeiten, die ich im Rostocker pathologischen Institut, unter Leitung und Kontrole des Herrn Professor A. Thierfelder im Sommer 1890 vorgenommen habe. Erst nachdem ich schon eine Reihe von Impfungen gemacht hatte, kam mir beim Studium der einschlägigen Litteratur ein Referat zu Gesichte (Correspondenzblatt für Schweizer Aerzte, 1888 Nr. 10) über eine Arbeit von Tavel: „Ueber die Diagnose der chirurgischen Tuberculose durch die Meerschweinimpfung". Die Arbeit selbst ist, wie der Herr Verfasser so freundlich war, mir auf eine directe Anfrage mitzuteilen, noch nicht erschienen. Die Resultate, welche Tavel bei seinen Experimenten erzielte, stimmen fast vollständig mit den meinigen überein. In den aus denselben zu ziehenden Schlüssen aber sind wir nicht gleicher Meinung. Ich hielt es deshalb nicht für ganz überflüssig unter Benutzung der einschlägigen Litteratur und der von mir selbst angestellten Experimente die Beurteilung der Anwendbarkeit des Impfversuchs zu diagnostischen Zwecken bei der Tuberculose verdächtigen Fällen in eingehender Weise zu besprechen.

Dass durch Uebertragung von tuberculös-virulenter Substanz an Tieren künstlich Tuberculose zu erzeugen ist, hat man bekanntlich schon seit längerer Zeit nachgewiesen. Zum ersten Male wurde wohl die Tuberculose in dieser Weise von Klencke im Jahre 1843 im Tierkörper erzeugt. Durch Einbringen von tuberculöser Substanz vom Menschen in die Halzvenen von Kaninchen gelang es ihm, bei letzteren wiederum Tuberculose zu erzeugen und somit darzuthun, dass die Tuberculose eine Infectionskrankheit sei. Seine Experimente wurden indessen nicht hinlänglich beachtet und bald wieder vergessen.

Von Villemin wurde dann 1865 zu demselben Zwecke, wie von Klencke, eine grosse Reihe von Impfungen mit vom Menschen entnommenen tuberculösen Massen an Tieren vorgenommen und zwar mit demselben Erfolg, wie ihn Klencke beobachtet hatte. Ausserdem verimpfte Villemin Substanz aus den Perlknoten der Rinder, wobei auch bei den Versuchstieren Tuberculose sich entwickelte. Er hatte somit den Beweis erbracht, dass die Perlsucht eine tuberculöse Erkrankung sei.

Indessen vermochten auch Villemin's Versuche nicht, Alle von der Infectiosität der Tuberculose zu überzeugen. Eine Anzahl von Forschern wollte auch durch die Verimpfung von nichttuberculöser Substanz bei Tieren echte Tuberculose hervorgebracht haben, wogegen die Anhänger der Infectionstheorie geltend machten, entweder sei die erzeugte Erkrankung keine Tuberculose gewesen, und wenn sie Tuberculose gewesen wäre, so müsse eine unbeabsichtigte Infection mit tuberculöser Substanz stattgefunden haben, oder es habe sich um Spontantuberculose gehandelt.

Eine Entscheidung in diesem Streite brachten erst 1877 Cohnheim und Salomonsen, welche zu ihren Impfungen die vordere Augenkammer des Kaninchens wählten. Diese Wahl war insofern eine besonders günstige, als erstens eine spontane Entwicklung von Vorderaugenkammer-Tuberculose nie beobachtet worden war, und zweitens, weil Impfungen mit anderen, als reinen tuberculösen Stoffen, zu einer allgemeinen Entzündung des Augapfels führten, während solche mit rein tuberculöser Masse ein ganz charakteristisches Krankheitsbild hervorriefen, dessen Veränderungen mit blossem Auge verfolgt werden konnten. Es bildeten sich nämlich nach einem Incubationsstadium von bestimmter Dauer an

der Iris graue Knötchen, welche später eine gelbliche Färbung annahmen und schliesslich vom Centrum des Knötchens aus verkästen. Die mikroskopische Untersuchung von Schnitten zeigte in den Knötchen die typische Tubercelstructur. Durch die Versuche der beiden erwähnten Forscher war also bewiesen, dass durch Verimpfung tuberculöser Masse Tuberculose bei den Versuchstieren entsteht und zwar nur dann, wenn tuberculöse Substanzen verimpft werden.

Zur Feststellung von Diagnosen die Erzeugung der Impftuberculose zu empfehlen, dazu hat hauptsächlich die Ansicht geführt, dass die letztere noch da zum Ziele führen könne, wo der mikroskopische Nachweis von Tubercelbacillen nicht gelang. Dass diese Ansicht ihre Berechtigung hat, wenigstens in solchen Fällen, in welchen reintuberculöse Substanz zur Untersuchung steht, dafür lieferte vor Allem Koch in seiner bekannten Arbeit über die Aetiologie der Tuberculose Belege.

Sein erster beobachteter Fall betraf Eiter aus einem tuberculösen Nierenabscess. Die mikroskopische Untersuchung auf Tubercelbacillen ergab ein negatives Resultat. Es wurden darauf zwei Meerschweinchen mit dem Eiter subcutan geimpft und zwei erhielten eine Injection in die Bauchhöhle. Nach fünf Wochen wurden die Tiere getötet. Bei den subcutan geimpften Tieren fand man die Inguinaldrüsen geschwollen und in beginnender Verkäsung, ausserdem in Milz und Lunge zahlreiche Knötchen. Bei den beiden anderen Tieren Tubercelknötchen in Peritoneum, Netz, Milz und Lunge.

Der zweite Fall betraf Eiter aus einem von Wirbelcaries ausgehenden Congestionsabscess. Fünf Meerschweinchen ward von dem Eiter in die Bauch-

höhle injiciert. Bei allen fünf Tieren fand sich in der siebenten Woche ausgebreitete Tuberculose.

Mit diesen Experimenten stimmen die von Cavagnis angestellten überein. Cavagnis (Baumgartens Jahresberichte, Bd. II. S. 284) impfte Hodensubstanz von einem tuberculösen Kaninchen und Milzsubstanz von einem von einer tuberculösen Mutter totgeborenen Meerschweinchen mit Erfolg auf Meerschweichen, nachdem er vorher keine Tubercelbacillen in der zu verimpfenden Substanz nachzuweisen vermochte. Cavagnis glaubt mit Sicherheit behaupten zu können, dass es sich um keine zufällige Infection handelt.

Da, besonders in den beiden Fällen von Koch, nicht zu bezweifeln ist, dass eifrig nach Tubercelbacillen gesucht wurde, so möchte man versucht sein, zu behaupten, dass die Impftuberculose unter allen Umständen die erfolgreichere Methode sei. Dieser Ansicht möchte ich widersprechen.

In einer grossen Reihe von Fällen, wo es wünschenswerth ist, durch Impfungen Diagnosen zu stellen, handelt es sich nicht um reintuberculöses Impfmaterial, sondern um Substanzen, in denen ausser dem Tubercelbacillus noch Mikroorganismen anderer Art enthalten sind. Da die Tubercelbacillen langsamer wachsen, als die uns bekannten pyogenen Mikroorganismen, so kann a priori angenommen werden, dass bei Verimpfung solchen Materials die Tuberculose sich nicht so ungestört und rein entwickeln wird, wie bei Verimpfung von lediglich Tubercelbacillen; die theoretische Betrachtung und sonstige Erfahrungen über Mischinfectionen lassen sogar das vollständige Ausbleiben der Tuberculoseentwickelung möglich erscheinen.

Es liegen nun in der That auch Beobachtungen vor, dass bei Verimpfung von nicht reiner tuberculöser Substanz der Erfolg nicht mit derselben

Exactheit eintritt, wie in den oben beschriebenen Fällen.

So erwähnt de Toma (Baumgartens Jahresberichte, Bd. II., S. 202), dass, wenn dem bacillenhaltigen Sputum sehr grosse Mengen von „Bacterium termo“ oder von Speichel beigemischt sind, septikämische Prozesse auftreten und vor der Entwickelung der Impftuberculose zum Tode des Versuchstieres führen.

Ich selbst habe bei Verimpfung von tubercelbacillenhaltigem Urin, in welchem auch andere Mikroorganismen enthalten waren, zwei Meerschweinchen an septischer Peritonitis verloren.

Diesem Nachtheil wäre am besten zu begegnen, wenn es Methoden gäbe, aus dem Impfmaterial die Tubercelbacillen von den übrigen Infectionskeimen zu isolieren.

Tavel glaubt (s. oben angeführtes Referat) dieses dadurch erreicht zu haben, dass er die zu impfende Flüssigkeit mit sterilisiertem Salzwasser verdünnt und das ganze eine Stunde lang stehen lässt. Die Tubercelbacillen sollen sich dann in Folge ihres hohen specifischen Gewichtes am Boden des Gefässes absetzen. Mit dem Bodensatz wird dann geimpft oder derselbe nach Bedürfnis vor der Impfung noch ein oder zweimal ausgewaschen.

Diese Methode hat zur Voraussetzung nicht nur, dass das specifische Gewicht der Tubercelbacillen ein hohes, sondern auch, dass dasselbe ein höheres ist, als das der andern Mikroorganismen. Ich habe das Tavel'sche Verfahren nicht geprüft; die Belege für die Richtigkeit der Angabe muss seine noch nicht veröffentlichte Arbeit bringen. Ich kann aber mit Bezug auf die kurze Zeit, die Tavel für das Zubodensinken der Tubercelbacillen annimmt, Bedenken nicht verschweigen. Ich habe normalem

Urin relativ grosse Mengen von Tubercelbacillen zugesetzt und habe selbst nach 24 Stunden keine Bacillen auf dem Boden des Gefässes nachweisen können. Wo aber Sediment im Urin war, fand ich unter sonst gleichen Bedingungen in diesem die Bacillen immer. Ich verweise hierbei auf weiter unten angegebene Versuchsreihen. Es ist hiernach der Schluss gestattet, dass das Setzen der Tubercelbacillen, wenigstens innerhalb der Zeit von 24 Stunden, hauptsächlich mechanisch durch kleine im Urin enthaltene Körperchen, Eiter- und Epithelzellen, deren Zerfallsprodukte, vielleicht auch Krystalle, geschieht. Diese werden aber ebenso gut die übrigen Mikroorganismen mit herabziehen.

Wäre das specifische Gewicht der Tubercelbacillen wirklich ein so hohes, wie es für die Verwendbarkeit der Tavel'schen Methode vorausgesetzt werden muss, so wäre es eine leichte Sache, aus grossen Mengen tubercelbacillenhaltiger Flüssigkeit dieselben zu sammeln und mikroskopisch zur Anschauung zu bringen, mithin für Flüssigkeiten die Methode der Impftuberculose überflüssig.

Um eine nicht reintuberculöse Flüssigkeit in eine reintuberculöse zu verwandeln, könnte man vielleicht den Umstand benutzen, dass die Tubercelbacillen eine grössere Widerstandskraft gegen höhere Wärmegrade besitzen, als die meisten anderen in Betracht kommenden Mikroorganismen. Bis zu welchem Grade eine solche Erhitzung stattzufinden hätte, würde noch der Versuche bedürfen, da die Angaben über den Wärmegrad, den Tubercelbacillen noch vertragen, ohne ihre Virulenz zu verlieren, schwanken.

Indessen, wenn auch die Verimpfung von unreinem Material häufig zur Folge hat, dass septikämische Prozesse die Entwickelung von Tuberculose

durch Zugrunderichten der Versuchstiere unterbrechen, so ist dieses doch nicht immer und unter allen Umständen der Fall. Meerschweinchen sind nach Tavel gegen septische Infectionen äusserst empfindlich. Auch ich habe, wie schon erwähnt, diese Erfahrung gemacht. Weniger empfindlich sind Kaninchen. Einem Kaninchen suchte ich tuberculöses Sputum in die Bauchhöhle zu injicieren, welches ausser den Tubercelbacillen eine Menge von anderen Infectionskeimen enthielt. Die Section, welche nach sechs Wochen vorgenommen wurde, zeigte, dass von der injicierten Flüssigkeit nichts in die Bauchhöhle gekommen, sondern dass die Injection eine subcutane gewesen war. Es entwickelte sich bei dem Versuchstiere innerhalb einiger Tage eine wallnussgrosse Geschwulst, welche schliesslich nach aussen durchbrach. Eine damals vorgenommene Untersuchung der eitrigen Masse auf Tubercelbacillen gab ein negatives Resultat. Allmählich heilte die Wunde. Bei der Section fanden sich aber in der Nähe der Einstichstelle mehrere kleine Käseherde, in welchen Tubercelbacillen gefunden wurden. In den angefertigten Schnitten zeigten sich Tubercelknötchen von charakteristischer Structur und spärliche Riesenzellen. An mehreren anderen Kaninchen, welche subcutan geimpft worden waren, machte ich dieselbe Beobachtung. Bei subcutaner Injection vermögen aber Kaninchen die Folgen einer gleichzeitigen Infection durch gewisse eiterbildende Mikroorganismen zu überstehen. Nach sonstigen Erfahrungen des hiesigen pathologischen Instituts zeigen sie bei Injectionen in die Bauchhöhle häufig dieselbe Widerstandsfähigkeit. Den Kaninchen gegenüber haben die Meerschweinchen für unsere Zwecke den Vorzug, dass sich bei ihnen die Tuberculose bedeutend schneller entwickelt. Nach Tavel

haben sie ausserdem den Vorteil, dass sie mit scrofulösen Drüsen entnommener Substanz geimpft, auch hier reagieren, was Tavel den Kaninchen bestreitet. Ich führe dem gegenüber an, dass Koch in seiner mehrerwähnten Arbeit ausdrücklich hervorhebt, er habe einen Wirkungsunterschied bei seinen Impfversuchen mit Material von tuberculösen Prozessen verschiedener Art, unter anderem auch Scrofulose, nicht wahrgenommen. Thatsächlich hat er auch (S. 63) von der Substanz einer scrofulösen Drüse etwas in die vordere Augenkammer von vier Kaninchen geimpft und dadurch allgemeine Tuberculose hervorgerufen.

Nach dem Vorhergesagten würden also in den Fällen, in welchen eine Mischinfection zu befürchten ist, Kaninchen vorzuziehen sein. In den übrigen Fällen aber würden wir Meerschweinchen als Versuchstiere benutzen, da sich bei ihnen die Impftuberculose schneller entwickelt. Baumgarten (Jahresberichte, Bd. IV. S. 187) empfiehlt zwar für alle Fälle das Kaninchen, weil bei den Meerschweinchen, nach seinen Erfahrungen, auch bei Impfung von nicht tuberculösen Massen Tuberculose entstehe. Da bei der Zuverlässigkeit des Autors eine ungenügende Desinfection der Instrumente ausgeschlossen ist, kann mit ihm wohl nur das Bestehen einer sogen. latenten Tuberculose als Grund für diese Erscheinung angenommen werden.

Einen bestimmten Zeitpunkt festzusetzen, zu welchem nach geschehener Impfung die Versuchstiere zu töten wären, ist nicht möglich; denn Untersuchungen, die Baumgarten mit künstlicher Uebertragung von Tuberculose gemacht hat, haben zu dem Resultat geführt, dass die Schnelligkeit der Entwickelung der Impftuberculose im geraden Verhältnis steht zu der Menge von Tubercelbacillen, welche verimpft wurden.

Ich habe drei Serien von Meerschweinchen tuberculösen Urin in die Bauchhöhle injiciert, den ich künstlich bereitete, indem ich zu normalem, frisch gelassenen Urin Tubercelbacillen, aus einer Reinzucht auf Blutserum stammend, hinzusetzte, und zwar in verschiedener Menge. Urin I. wurde so bereitet, dass zu 120 ccm. Urin 5 kleine Platinösen Tubercelbacillenreincultur hinzugesetzt wurden, also relativ grosse Mengen. Durch Verdünnung mit weiterem Harn wurde Urin II. und III. hergestellt; diese enthielten etwa $^1/_2$ resp. $^1/_4$ der Menge von Tubercelbacillen wie I. Von jeder Sorte Urin wurde einem Kaninchen und drei Meerschweinchen je 5 ccm. in die Bauchhöhle gespritzt. Die am 14. und 15. Tage nach der Injection vorgenommene Untersuchung zeigte, dass das Meerschweinchen der ersten Serie ausgebreitete Tuberculose des Bauchfelles und des Netzes hatte. Das Kaninchen dieser Serie hatte an der Einstichstelle zwei mässig grosse käsige Heerde. Sonst war von Tuberculose nirgends etwas zu sehen. Die Meerschweinchen der zweiten und dritten Serie hatten ebenfalls Tubercelknötchen am Peritoneum und Netz, jedoch beide bedeutend weniger, als Serie I., und Serie III. weniger, als Serie II. Das Kaninchen der dritten Serie starb am 15. Tage. Es hatte an der Einstichöffnung einen nach aussen aufgebrochenen Abscess, ausserdem im Netz einen beinahe erbsengrossen Knoten. In beiden Herden wurden Tubercelbacillen nachgewiesen. Wir konnten also bestätigen, dass in der That bei Meerschweinchen die Schnelligkeit der Entwickelung und die Intensität der Impftuberculose abhängig ist von der Menge der eingeführten Tubercelbacillen, und dass ferner Meerschweinchen schneller und präciser auf die Impfung reagieren, als Kaninchen.

Zu diagnostischen Zwecken wird der Impfversuch hauptsächlich nur dann zu verwenden sein, wenn relativ wenig Tubercelbacillen in der zur Untersuchung stehenden Substanz vorhanden sind. Die Zeit von 14 Tagen wird aber in solchen Fällen jedenfalls nicht genügen. Tavel giebt an, dass der Verlauf der Tuberculose beim Meerschweinchen in 2—4 Wochen die Diagnose sicher zu stellen erlaube. Man wird daher gut thun, mehrere Tiere zu gleicher Zeit zu impfen und zu verschiedenen Zeiten, in Intervallen von etwa 8 Tagen, zu töten, jedoch das erste nicht vor dem 14. Tage nach der Impfung.

Eine weitere Frage ist die: wo, an welchem Körperteil des Tieres soll die Verimpfung der Massen stattfinden, welche man im Verdachte hat, dass sie Tubercelbacillen enthalten? Von den Autoren wird angegeben: die vordere Augenkammer, die Pleurahöhle, die Bauchhöhle, die Gelenkhöhlen. Halten wir fest, dass ein Hauptvorteil der Impfung gegenüber der mikroskopischen Untersuchung darin besteht, dass bei ersterer grössere Mengen des fraglichen Materials zur Untersuchung verwandt werden können, so ist jedenfalls, unter sonst gleichen Verhältnissen, diejenige Stelle am Tiere für die Verimpfung am günstigsten, welche diesen Vorteil auszunutzen erlaubt. Es kommen bei diesem diagnostischen Hülfsmittel ferner noch die zu überwindenden grösseren oder geringeren Schwierigkeiten bei Ausführung der Impfung in Betracht. Dieses Beides lässt uns die Bauchhöhle für die meisten Fälle, zumal wo es sich um zu verimpfende Flüssigkeiten handelt, als den besten Ort zur Erzeugung von Impftuberculose bezeichnen.

Mit besonderer Vorliebe wird nun aber die vordere Augenkammer des Kaninchens hierzu von

mancher Seite empfohlen, sei es, weil diese Stelle durch Cohnheims und Salomonsens Versuche, um mit Baumgarten zu reden, zum klassischen Terrain für Erzeugung von Impftuberculose geworden ist, sei es, weil diese Stelle den Vorteil gewährt, dass die Entwickelung der Tuberculose hier von dem Experimentator mit blossem Auge verfolgt werden kann*). Wo es sich um Implantation von reintuberculösen Gewebsstücken handelt, ist die Wahl der vorderen Augenkammer für die Impfung zweifellos gerechtfertigt, wo aber dem Impfmateriale ausser den Tubercelbacillen noch andere Mikroorganismen beigemischt sind, wie in den allermeisten Fällen von tuberculösem Urin, ist die vordere Augenkammer nicht zu empfehlen. Es handelt sich für unsere Zwecke nicht um die Erzeugung allgemeiner Miliartuberculose, sondern, da wir in möglichst kurzer Zeit eine sichere Diagnose zu stellen suchen müssen, um Erzeugung einer erkennbaren Localtuberculose. Schon Koch in seiner mehrfach citierten Arbeit sagt, bei Erwähnung der Cohnheim-Salomonsenschen Versuche, die Wahl der vorderen Augenkammer des Kaninchens zu Impfversuchen seitens dieser Autoren sei deswegen eine glückliche zu nennen, weil sich hierbei von vornherein diejenigen

*) So hat König bei der letztjährigen deutschen Chirurgen-Versammlung in Berlin im Anschluss an einen Vortrag von Madelung „Über die operative Behandlung der Nierentuberculose" bemerkt: „Dabei möchte ich empfehlen, dass man bei solchen einfachen (Tierimpf-) Versuchen nicht die Bauchhöhle nimmt, sondern sich an das Auge oder ein Gelenkt hält. Die Dauer des Versuchs ist dann weiter auch nicht so sehr eine auf Wochen hingezogene, wie Herr Madelung das ausgeführt hat. In 14 Tagen kann man doch darüber sicher sein, ob ein Auge tuberculös wird oder nicht, und ich meine 14 Tage sind in der Regel bei der Frage, ob man eine Niere exstirpieren soll oder nicht, keine allzulange Zeit".

Fälle, in denen es gelungen, reintuberculöse Substanz zu verimpfen, von denen unterscheiden, bei welchen ausser dem Tubercelvirus andere Infectionsstoffe verimpft werden. Die letzteren erzeugen im Auge eine schnell verlaufende, allgemeine Entzündung, welche mit der langsam und eigenartig sich entwickelnden Impftuberculose nicht verwechselt werden könne. Auch Baumgarten (Lehrbuch d. pathol. Mykologie Nr. 297) erwähnt, dass, wenn bei intraocularen Tubercelimpfungen noch pyogene Mikroorganismen hinzutreten, statt des sonst auftretenden fibrinösen ein eiteriges Exsudat in die vordere Augenkammer gesetzt wird. Ich machte einen einschlägigen Versuch, indem ich einem Kaninchen Urin in die vordere Augenkammer brachte, welcher neben Tubercelbacillen noch viele andere Mikroorganismen enthielt. Schon am zweiten Tage begann eine acute Entzündung im Auge, die innerhalb kürzester Zeit zum Schwund des Bulbus führte. Von einer Entwickelung von Tubercelbacillen auf der Iris konnte bei so acutem Verlauf gar keine Rede sein.

Ausser in die Bauchhöhle käme bei Mischinfectionen noch die subcutane Injection in Betracht, weil die complicierende Infection dabei am leichtesten überwunden zu werden scheint. Die Injection in die übrigen empfohlenen Körperhöhlen hat aber vor der in die Bauchhöhle keine Vorzüge, dagegen den Nachteil, dass sie meist schwieriger auszuführen ist.

Bei der Abschätzung des Wertes des Impfversuches zu diagnostischen Zwecken, ist es nötig zu wissen, ob die Verimpfung selbst von minimalen Mengen von Tubercelbacillen sicher Impftuberculose erzeugt.

Da wir niemals in der Lage sind, dieselbe Substanz, die wir später verimpfen wollen, erst auf Tubercelbacillen zu untersuchen, so können wir nie

mit Sicherheit sagen, ob und in welcher Menge in dem verimpften Material Tuberculbacillen enthalten waren. Ein Experiment zur Entscheidung der aufgeworfenen Frage ist somit zunächst nicht möglich. Wir sind aber mit Riedel (Koenig, Lehrb. d. allg. Chir. S. 517) der Ansicht, dass zweifellos im Körper Vorrichtungen existieren, welche die Ansiedelung von Bacillen verhindern können, und dass die mehr oder weniger gute Ausbildung dieser Vorrichtungen die Ursache der grösseren oder geringeren Disposition der verschiedenen Tierspecies für Erwerbung der Tuberculose abgiebt. Wir glauben also, dass, wenn ganz geringe Mengen von Tuberculbacillen verimpft werden, Impftuberculose bisweilen ausbleiben kann. Für unsere Ansicht sprechen auch die Erfahrungen Baumgartens, die er in seinen Jahresberichten Bd. II. S. 283, Anm. 316, angiebt. Tuberculöser Eiter rief in seinen Experimenten meist eine sehr langsame, oft genug gar keine, selten eine rapidere Tuberculentwickelung hervor; in den letzteren Fällen konnte jedesmal die Gegenwart relativ reichlicherer Tuberculbacillen nachgewiesen werden.

Dass auch die Impftuberculose nicht immer zum Ziele führt, wo die mikroskopische Untersuchung im Stiche liess, ergiebt sich auch aus der folgenden Beobachtung Herczels. In einem Falle von hochgradiger Nierentuberculose, welche später durch die anatomische Untersuchung sicher gestellt wurde, und wobei die mikroskopische Untersuchung des Urins auf Tuberculbacillen kein Resultat ergeben hatte, war von dem Urin einem Kaninchen ins Auge gespritzt worden, jedoch ohne Erfolg. Das negative Resultat mag in diesem Falle darin seinen Grund gehabt haben, dass in dem Urin neben nur wenigen Tuberculbacillen viele andere Mikroorganismen enthalten waren; der negative Ausfall der Impfung

dürfte somit an der Wahl des ungünstigen Impfortes gelegen haben.

Für unsere Zwecke kommt es indessen nicht so sehr darauf an, ob bei Verimpfung von minimalen Mengen von Tuberculbacillen überhaupt immer Tuberculose entsteht, sondern ob in solchen Fällen die letztere innerhalb eines Zeitraumes entsteht, welcher nicht zu gross ist, um die Impftuberculose in praxi als diagnostisches Mittel wertlos zu machen.

Ich habe schon erwähnt, dass Baumgarten und auch wir die Erfahrung machten, dass die Zeit für die Entwickelung der Tuberculose sich abhängig zeigte von der Menge der eingeführten Tuberculbacillen. Es wäre somit nicht unmöglich, dass bei Einführung von ganz geringen Mengen von Bacillen die Entwickelung der Impftuberculose so viel Zeit in Anspruch nähme, um den Wert der Methode in Frage zu stellen. Eine bestimmte Frist, die für diesen Zweck nicht überschritten werden dürfte, lässt sich bei dem allerdings oft langsamen Verlauf tuberculöser Erkrankungen beim Menschen nicht aufstellen, doch dürfte eine Zeit von 6—8 Wochen im Allgemeinen wohl als Maximum anzusehen sein. Es hat nun Gaucher (Baumgarten, Jahresberichte Bd. III. S. 211) zwei kräftigen Kaninchen je 1 ccm. tuberculösen Wirbeleiters in die Bauchhöhle gespritzt. Eins der Tiere blieb dauernd gesund, das andere begann zwei Jahre nach der Injection rapid abzumagern und starb bald darauf. Bei der Section fand sich in der Nähe der Injectionsstelle eine umschriebene Tuberculose des Peritoneums, ausserdem ein käsiger Heerd an der Basis der linken Lunge, sonst war von Tuberculose nichts zu entdecken. Dass es sich hierbei um eine durch die Impfung hervorgebrachte Tuberculose gehandelt hat, ist nach

dem Sectionsbefund nicht wohl zu bezweifeln. Die äusserst langsame Entwickelung kann seinen Grund nur darin haben, dass äusserst geringe Mengen von Tubercelbacillen verimpft wurden.

Fassen wir das Resultat unserer bisherigen Betrachtung zusammen, so müssen wir von der Impfung der Tuberculose als diagnostisches Hilfsmittel sagen, dass sie bei Mischinfectionen sehr oft unzuverlässig ist, bei Verimpfung von geringen Mengen von Tubercelbacillen entweder gar nicht zum Ziele führt, oder erst in einer so späten Zeit, dass die Methode wertlos wird. Sicher führt sie zum Ziele nur da, wo es sich um reintuberculöse Masse handelt, in welcher die Tubercelbacillen in nicht zu geringer Menge vorhanden sind.

Oben führten wir Fälle aus der Litteratur an, in welchen die Impfung Erfolg hatte, während der mikroskopische Nachweis von Tubercelbacillen nicht gelang. Besonders in den Fällen von Koch, der ein grosses Interesse daran haben musste, Tubercelbacillen zu finden, kann angenommen werden, dass eine gründliche Durchsuchung des Materials stattgefunden hatte. Hat nun der Erfolg der Impfung darin seinen Grund, dass in dem Impfmaterial zufällig mehr Bacillen enthalten waren, oder haben wir einen andern Grund zu suchen?

Garré (Baumgartens Jahresberichte Bd. II. S. 232), der 30 Fälle von tuberculösen Abscessen und vier Fälle von tuberculöser Gelenkeiterung auf Tubercelbacillen untersuchte, konnte dieselben mikroskopisch nur selten, und dann auch nur in geringer Menge nachweisen; mit künstlichen Kulturverfahren hatte er gar keinen Erfolg zu verzeichnen. Durch Impfversuche an Tieren gelang es ihm indessen stets die tuberculöse Natur des zur Untersuchung stehenden Materials zu constatieren. Aus diesen Erfahrungen

leitet er die Hypothese ab, dass die untersuchten Stoffe ihre specifisch pathogene Wirksamkeit der Anwesenheit von Tubercelsporen verdanken, von denen er, weil auch die künstlichen Kulturversuche negativ ausfielen, glaubt, dass sie nur im lebenden Körper zur Auskeimung gelangen. Baumgarten bemerkt in einer Anmerkung hierzu, dass er, auf Grund seiner Beobachtungen über die Abhängigkeit der Tuberculose von der Menge der eingeführten Tubercelbacillen, es für unwahrscheinlich halten müsse, dass es specifisch wirksame, tuberculöse Substanzen gäbe, die nur Tubercelsporen und keine Bacillen enthielten. Auf Grund seiner eigenen, oben erwähnten Beobachtungen an grossen Versuchsreihen ist Koch der Ansicht, dass nicht behauptet werden könne, die Tubercelbacillen hätten in dem Eiter gefehlt, und er spricht es an anderer Stelle aus, nur die Verimpfung von tubercelbacillenhaltiger Substanz vermöge Tuberculose zu erzeugen.

Trotz der angeführten entgegengesetzten Ansichten ist es nicht undenkbar, dass Garrés Hypothese richtig ist, und es wird wohl nicht gelingen, sie zu widerlegen, solange wir nicht im Stande sind, die Sporen sichtbar zu machen. Die günstigen Resultate, die Koch in zwei Fällen und Cavagnis in einem Falle erzielten, nachdem sie vergeblich versucht hatten, die Tubercelbacillen mit dem Mikroskrope zu finden, mögen also darin ihren Grund haben, dass die Tubercelbacillen in dem Impfmaterial zu Grunde gegangen und nur ihre Dauerformen darin enthalten waren.

Es ist somit die Impfung als diagnostisches Hilfsmittel zur Erkennung tuberculöser Erkrankungen nicht zu entbehren. Andererseits ist aber aus dem zusammengestellten Material ersichtlich, dass dieses Hilfsmittel an einer Reihe von Unzuträglichkeiten

leidet. Die Unzuverlässigkeit der Methode in vielen Fällen, die Möglichkeit einer unbeabsichtigten Infection der Tiere mit Tubercelbacillen, die, selbst in den günstigen Fällen, verhältnismässig lange Dauer, welche die Impftuberculose zu ihrer Entwickelung bedarf, und endlich die Umständlichkeit des ganzen Verfahrens berechtigen zu der Behauptung, dass die Impftuberculose weit davon entfernt ist, das Ideal eines diagnostischen Hilfsmittels zu sein, und sich bei weitem nicht mit der Methode des mikroskopischen Nachweises messen kann. Wir schliessen uns Baumgarten an, welcher die Forderung aufstellt, dass zunächst immer die mikroskopische Untersuchung des in Frage stehenden Materials zu erfolgen habe, bevor man zur Impfung seine Zuflucht nimmt.

So bequem das Färben der Tubercelbacillen im Allgemeinen zu bewerkstelligen ist, so haben wir selbst doch zur Genüge erprobt, wie ermüdend es ist, eine grössere Reihe von Präparaten unter starken Vergrösserungen auf Tubercelbacillen zu durchsuchen, wenn solche in nur verschwindend geringen Mengen in dem Untersuchungsobject enthalten sind. Soll somit die Anwendung des Impfversuchs auf die Fälle beschränkt bleiben, wo in der That keine Tuberkelbacillen mehr nachweisbar sind, aber Sporen in dem zu untersuchenden Material mit Bestimmtheit vermutet werden, so bedarf es noch Verbesserungen der Methode des mikroskopischen Nachweises, und zwar vor allem da, wo es sich um tubercelbacillenhaltige Flüssigkeiten (Urin) handelt. Die Verbesserungen, die einzutreten haben, denke ich mir so, dass Verfahren zu suchen wären, vermittelst derer man besser als bisher im Stande sein würde, die Tubercelbacillen aus einem grossen

Quantum Flüssigkeit auf einen möglichst beschränkten Raum zu bringen.

Von diesem Gesichtspunkte aus habe ich mich bemüht, für die Untersuchung von tubercelbacillenhaltigem Urin eine Verbesserung herbeizuführen und glaube in der That durch die gefundene Methode, deren Beschreibung ich auf den nächsten Seiten folgen lasse, für solche Untersuchung eine Erleichterung erzielt zu haben.

Bei der Untersuchung von Harn auf Tubercelbacillen, verfuhr ich anfänglich bei meinen Arbeiten im Rostocker pathologischen Institut nach dem sogenannten „Einengungsverfahren" und zwar ungefähr so, wie es de Germes (Baumgartens Jahresberichte Bd. II. S. 224) angiebt. De Germes betont, dass man zu diesen Untersuchungen nicht beliebig von dem Urin etwas herausnehmen und unter das Mikroskop bringen solle, sondern dass man den Harn stehen lassen und dann das Sediment auf Tubercelbacillen untersuchen müsse. Von Kirstein (ebendaselbst) wird vorgeschlagen, diesen Bodensatz dadurch „einzuengen", dass man von dem Sediment die klare Flüssigkeit abgiesst, ersteres filtriert, und dann das Filtrat auf Bacillen untersucht. Ich vermochte in dem Kirstein'schen Vorschlag keine Verbesserung zu sehen. Bei meinen Untersuchungen liess ich den Urin in Spitzgläsern sedimentieren und holte mittelst Pipette den Bodensatz von der Spitze des Gefässes zur Untersuchung heraus.

Um die Brauchbarkeit dieser Methode zu prüfen, setzte ich zu normalem, frischgelassenen Urin Tubercelbacillen, die ich einer virulenten Reincultur entnahm, und zwar setzte ich zu 120 ccm. Urin 5 kleine Platinösen Tubercelbacillen-Reincultur. Dieser Harn wurde dann zum Sedimentieren hin-

gestellt und nach 24 Stunden der Bodensatz auf Bacillen untersucht. Ich vermochte jedoch in acht angefertigten Präparaten keine solche nachzuweisen. Da, wie wir wussten, in dem Urin relativ grosse Mengen von Bacillen vorhanden waren, so konnte dieses unbefriedigende Resultat nur auf Rechnung der ungenügenden Methode gesetzt werden, sowie der unzutreffenden Voraussetzungen, auf welche sich die Methode stützt. Wäre, wie Tavel annimmt, das specifische Gewicht der Tuberculbacillen ein so hohes, dass sie sich in der Zeit von einer Stunde in einem gewöhnlichen Glasgefässe zu Boden senken, so hätten wir dieselben in unseren Präparaten haben und finden müssen. Wir kamen, wie bereits oben hervorgehoben, auf die Vermutung, dass nicht das hohe specifische Gewicht an dem Herabsinken der Bacillen Schuld trage, wenigstens nicht innerhalb der Zeit von 24 Stunden, sondern dass dieselben mechanisch herabgerissen würden durch die im Harn enthaltenen Zellen und Zellfragmente, durch Krystalle u. dergl. Es fand denn auch der negative Ausfall unserer obigen Untersuchung darin seine Erklärung, dass sich trotz 24stündigen Stehens kein Sediment gebildet hatte. Wenn nun die Resultate auch in sedimentreicherem Harn bisher nicht befriedigten, so musste das darin seinen Grund haben, dass die zelligen Bestandteile im Harn nur unvollkommen das Herabziehen der Bacillen bewirken. Es war also denkbar, dass durch Hinzufügen einer Substanz, welche in der gedachten Weise vollkommener mechanisch zu wirken im Stande wäre, bessere Resultate erzielt werden könnte. Ein solches Mittel glaubten wir in dem Hühnereiweiss zu besitzen und fanden unsere Erwartungen bestätigt. Wir verfuhren dabei in folgender Weise: Zunächst wurde reines Eiweiss mit dem vierfachen Quantum destillier-

ten Wassers versetzt, wobei sich eine grossflockige Masse, wahrscheinlich Globuline, am Boden des Gefässes absetzte. Von dem darüber stehenden opalescierenden verdünnten Eiweiss wurden bis zu 10 ccm. dem Urin zugesetzt, das Ganze gut durchschüttelt und bis zur Gerinnung des Eiweisses, welche zwischen 65° und 70° C. erfolgt, im Wasserbade erhitzt. Gelegentlich haben wir auch bis zum Aufkochen erhitzt, ohne Nachteile für die spätere Untersuchung, bez. für die Färbbarkeit der Bacillen zu beobachten. Je nach der Menge des hinzugefügten Eisweisses bildete sich in kurzer Zeit ein grösseres oder geringeres Quantum eines feinflockigen Sedimentes, welches dann auf Tubercelbacillen untersucht wurde.

Bevor wir unsere Versuchsreihen anführen, sei hier auf eine bereits oben citierte Bemerkung Herczels eingegangen, welche, wenn sie richtig wäre, eine Verbesserung der Harnuntersuchungsmethode auf Tubercelbacillen in der Weise, wie wir sie erstreben, unnütz erscheinen lassen müsste. Herczel giebt an, indem er sich auf die Untersuchungen von Lustgarten, Alvarez, Tavel, Matterstock etc. beruft, dass die Smegmabacillen, welche im Präputialsecret und in der Harnröhre vorkommen, morphologisch sich von den Tubercelbacillen durch nichts unterscheiden, auch tinctoriell dasselbe Verhalten wie diese zeigen, somit für den Nachweis von Tubercelbacillen im Harn nur die Impftuberculose Verwendung finden könne. Dem ist entgegenzuhalten, dass das Vorkommen von Smegmabacillen in der Harnröhre nicht als erwiesen angesehen werden kann, und selbst wenn dem so wäre, so würde es in zweifelhaften Fällen leicht gelingen, durch Abnahme des Harns mittelst Katheter Harn zur Untersuchung zu gewinnen, in welchem das Vor-

handensein von Smegmabacillen ausgeschlossen werden dürfte. Indessen ist diese Vorsicht kaum nötig. Zur Differentialdiagnose zwischen Tubercelbacillen und Smegmabacillen führt Hueppe (die Method. d. Bakterien-Forschung S. 116) an, dass die Smegmabacillen fast niemals ganz gleichförmig sind, was davon herrühre, dass die Säurefestigkeit derselben auf örtlich erworbenen Fetthüllen und auf Fettdurchtränkung beruhe und daher von den verschiedensten Bakterien erworben werden könne, welche im Smegma praeputii saprophytisch zu existieren vermöchten.

Was die Säurefestigkeit der Smegmabacillen betrifft, so ist z. B. schon von Matterstock hervorgehoben, dass sie bedeutend geringer ist, als die der Tubercelbacillen.

Von Marcuse (Baumgartens Jahresberichte Bd. IV. S. 225) ist für die Entfärbung der Smegmabacillen durch $33^1/_2$ % Salpetersäure festgesetzt, dass eine Einwirkung von zwei Minuten dazu hinreiche, eine Zeit, welche zur Entfärbung von Tubercelbacillen nicht entfernt genügt. Ausserdem geben Alvarez und Tavel (Baumgartens Jahresberichte Bd. II. S. 260) an, dass den Smegmabacillen der Farbstoff, der gegen Säureeinwirkung eine gewisse Resistenz zeige, durch Zusatz von Alkohol sofort entzogen werde. Es geht aus diesem Allen zur Genüge hervor, dass bei richtiger Behandlung eine Verwechselung der Smegma- mit den Tubercelbacillen nicht zu befürchten ist.

Um die Brauchbarkeit unserer Methode zu erproben und um sie mit dem bisher üblichen Einengungsverfahren zu vergleichen, haben wir eine Reihe von Harnuntersuchungen angestellt, über die wir nunmehr im Folgenden berichten.

I. Versuchsreihe.

Zu 120 ccm. frisch gelassenen Urins werden 5 kleine Platinösen Tubercelbacillen-Reincultur hinzugesetzt, nachdem sie mit etwas Urin im Uhrschälchen gut verrieben worden waren. Von dieser Mischung werden 25 ccm. ohne weitere Behandlung zum Sedimentieren hingestellt; zu weiteren 25 ccm. werden 10 ccm. verdünntes Eiweiss hinzugesetzt und die Mischung nach der oben angegebenen Methode weiterbehandelt. Bezeichnen wir den nach der alten Methode behandelten Urin mit I. A., den letzteren Urin mit I. B. Durch Hinzufügen von Harn zu dem ursprünglichen Urin werden Mischungen hergestellt, welche an Tubercelbacillen $^1/_2$ resp. $^1/_4$ so reich sind, wie Urin I. Von diesen Urinen werden ebenfalls je 25 ccm. nach der alten und nach unserer Methode behandelt. Wir bezeichnen sie, entsprechend dem Urin I. als Urin II. A. und B., und Urin III. A. und B. Die nach 24 Stunden vorgenommene Untersuchung ergab folgende Resultate.

Von Urin I. A. (alte Methode) werden in acht Präparaten gar keine Bacillen gefunden, in Urin I. B. (neue Methode) sind in allen acht Präparaten Tubercelbacillen vorhanden.

Urin I. A. hatte zur Zeit dieser Untersuchung noch kein Sediment abgesetzt, erst am zweiten Tage war ein solches, wenn auch in nur geringer Menge, vorhanden. Die nunmehr vorgenommene Untersuchung gab ebenfalls ein positives Resultat.

Urin II. A. und B., sowohl wie Urin III. A. und B. kamen erst nach 48 Stunden zur Untersuchung. In allen Reagenzgläsern hatte sich ein

grösserer oder geringerer Bodensatz gebildet. In allen Präparaten wurden Bacillen gefunden, in II. B. und III. B., aber leichter und in grösserer Anzahl als in II. A. und III. A.

II. Versuchsreihe.

Zu 250 ccm. Urin wurde eine kleine Platinöse Tubercelbacillen-Reincultur hinzugesetzt, nachdem das Klümpchen zuerst im Uhrschälchen gut verrieben war. Von diesem Urin I. wurden 25 ccm. zum Sedimentieren hingestellt, Urin I. A., und 15 ccm. (Urin I. B.) nach unserer Methode behandelt und hingestellt. Zu 25 ccm. Urin I. wurden 250 ccm. normalen Urins gegossen und das Ganze gut gemischt. Von dieser zweiten Mischung wurden wiederum 25 ccm. nach alter und 15 ccm. nach neuer Methode, Urin II. A. und Urin II. B., behandelt.

Nach 24 Stunden wurden von jeder Sorte vier Präparate gemacht, die Untersuchung ergab folgende Resultate.

Urin I. A. (alte M.) in allen Präp. TB.

Urin I. B. (neue M.) ebenso.

Urin II. A. (alte M.) in keinem Präp. TB.

Urin II. B. (neue M.) in allen Präp. TB.

In dieser Versuchsreihe zeigt sich schon ein besseres Resultat bei Anwendung unserer Methode, wobei noch zu bemerken ist, dass für diese nur die Tubercelbacillen in je 15 ccm. in Betracht kommen, im Gegensatz zu je 25 ccm. Urins bei der anderen Methode.

III. Versuchsreihe.

Der zu dieser Versuchsreihe benutzte Urin stammte von einem Knaben, bei welchem klinischerseits die Diagnose: „cystitis tuberculosa" gestellt war. Es wurde bei diesen Versuchen sowohl reines unverdünntes Hühnereiweiss in verschiedener Menge benutzt, als auch untersucht, ob durch Hinzufügen von verschieden grossen Mengen verdünnten Hühnereiweisses ein Unterschied in der Wirkung eintritt. Desgleichen wurde versucht, das in diesem Urin pathologisch enthaltene Eiweiss durch Erwärmen zur Gerinnung zu bringen und zum Herabziehen der Tubercelbacillen zu benutzen. Diese Voraussetzung war richtig! In vier Präparaten, welche nach 24 Stunden aus diesem (ohne Zusatz von Hühnereiweiss, nur durch Erwärmung hervorgerufenen) Sediment angefertigt wurden, waren Tubercelbacillen nachweisbar. Die weiteren Untersuchungen mit diesem Urin sind folgende:

Nr. 1. 5 ccm. Urin wurden mit ebenso vielen Cubikcentimetern unverdünnten Eiweisses versetzt und das Ganze bis zur Gerinnung erhitzt.

Nr. 2. Zu 5 ccm. Urin wurden einige Tropfen reinen Hühnereiweisses hinzugefügt und im übrigen nach unserer Methode behandelt.

Nr. 3. Zu 5 ccm. Harn wurden 5 ccm. verdünntes Hühnereiweiss hinzugefügt und nach unserer Methode weiter behandelt.

Nr. 4. Ebenso wurde mit weiteren 5 ccm. verfahren, zu denen aber nur einige Tropfen verdünnten Hühnereiweisses hinzugefügt wurden.

Nach 24 Stunden wurde die Untersuchung vorgenommen. Die Präparate von Nr. 1 und Nr. 2, bei denen reines Hühnereiweiss benutzt wurde, liessen sich äusserst schlecht färben, das Sediment war zu grossflockig und die Untersuchung wurde durch die geringe Durchsichtigkeit der Präparate erschwert. In den Präparaten von Nr. 2 konnten keine Tubercelbacillen nachgewiesen werden, von den vier Präparaten von Nr. 1 nur in zweien derselben. Von Nr. 3 und Nr. 4 wurden auch je vier Präparate angefertigt und in allen Tubercelbacillen gefunden, in den ersteren jedoch bedeutend mehr, als in den letzteren. Es zeigte sich also bei diesen Versuchen, dass reines Hühnereisweiss zu unseren Zwecken weniger empfehlenswert ist, als verdünntes, ferner dass, wo im Urin schon in relativ reichlicher Menge Eiweiss vorhanden ist, dieses allein genügt und ein Hinzufügen von Hühnereiweiss unnötig ist.

IV. Versuchsreihe.

Zu dieser Versuchsreihe wurde Urin von demselben Patienten genommen, wie zur vorigen. Bei diesen Versuchen wollten wir durch bedeutende Verdünnung des vorhandenen Urins einen Harn erzeugen, der relativ wenige Bacillen enthielte, um an diesem einen Vergleich zwischen den Methoden anzustellen. Der krankhafter Weise tubercelbacillenhaltige Urin schien uns dazu geeigneter, als ein durch Zumischen von Bacillen gewissermassen künstlich tuberculös gemachter, weil es bei letzterem, trotz gründlichen Verreibens der kleinen Brocken von Reincultur nicht gelingt, die Bacillen gleichmässig zu verteilen; dieselben bleiben vielmehr zu zahlreichen, verschieden grossen, dicht gedrängten

Häufchen vereinigt. Der besseren Uebersichtlichkeit halber stellen wir die 5 Resultate der Untersuchung gleich neben die Angaben über die Behandlungsart, der wir das Material unterwarfen.

I. 40 ccm. Urin zum Sedimentieren hingestellt.	I. In allen vier angefertigten Präparaten waren Tubercelbacillen, jedoch nur in einzelnen Häufchen.
II. Zu 5 ccm. Urin 35 ccm. 0,6 procentige Kochsalzlösung hinzugefügt und so zum Sedimentieren hingestellt.	II. In vier angefertigten Präparaten keine Tubercelbacillen.
III. 5 ccm. Urin werden mit 35 ccm. Kochsalzlösung verdünnt, dann bis zur Gerinnung des darin enthaltenen natürlichen Eiweisses erwärmt und sedimentieren gelassen.	III. In allen vier Präparaten Tubercelbacillen und zwar in grösserer Menge, als in denen von I. In Gegensatz zu I zeigen sich eine grosse Menge von einzelnen Bacillen, so dass fast bei jeder Verschiebung des Präparates im Gesichtsfelde Tubercelbacillen gesehen werden.
IV. Zu 5 ccm. Urin werden 40 ccm. physiologischer Kochsalzlösung hinzugefügt. Von dieser Verdünnung werden 10 ccm. genommen und zu	IV. In zwei von vier Präparaten finden sich Tubercelbacillen.

diesem 10 ccm verdünnten Hühnereiweisses hinzugefügt. Das Ganze wird bis zur Gerinnung erwärmt.	
V. 5 ccm. reinen Urins werden mit 5 ccm. verdünnten Hühnereiweisses vermischt und wie oben weiter behandelt.	V. In allen vier Präparaten Tubercelbacillen.

In der ganzen Versuchsreihe waren die Resultate am günstigsten in den Präparaten von III., besser selbst, als die von I., obwohl hier 40 ccm. des ursprünglichen Harns zur Untersuchung genommen wurden, bei ersterem aber nur 5 ccm. Der Vorzug unserer Behandlung gegenüber dem älteren „Eingungsverfahren", zeigt sich am deutlichsten beim Vergleich von II mit V und IV. Während in den von II bereiteten Präparaten sich keine Tubercelbacillen finden liessen, wurden in den vier Präparaten von V solche gefunden und selbst in zwei von vier Präparaten von IV, wo es sich doch um eine bedeutende Verdünnung des ursprünglichen Urins handelte.

V. Versuchsreihe.

Der Urin desselben Patienten wird benutzt. Bei der letzten Versuchsreihe hatte der Urin die besten Resultate gegeben, bei dem das in demselben schon enthaltene Eiweiss zum Herabziehen der Bacillen benutzt wurde. Wir wollten deswegen uns durch einen weiteren Vergleich überzeugen, ob auf diese Weise immer bessere Resultate erzielt würden, als beim Hinzufügen von Hühnereiweiss. Bei diesem Versuche legten wir besonderes Gewicht darauf, dass nach dem Hinzufügen von Hühnereiweiss das Gefäss gut geschüttelt wurde.

Nachdem wir 5 ccm. des frischgelassenen Urins mit 50 ccm. Kochsalzlösung verdünnt hatten, wurden von dieser Verdünnung genommen:

I. 10 ccm., welche ohne Zusatz erhitzt wurden. Es entstand nur eine geringe Trübung. Dann zum Sedimentieren hingestellt.	I. Nach 48 Stunden wenig Sediment, von 4 untersuchten Präparaten nur in einem Tubercelbacillen.
II. 10 ccm., dazu 3 ccm. verdünntes Hühnereiweiss, tüchtig geschüttelt, dann bis zur Gerinnung erhitzt.	II. Nach 48 Stunden untersucht. Zeigt deutliches Sediment. In vier angefertigten Präparaten sind Bacillen sowohl in Häufchen, als auch besonders in überall zertreuten einzelnen Exemplaren nachzuweisen.

In I war offenbar die Menge des im Urin enthaltenen Eiweisses zu gering, als dass sie mechanisch genügend wirksam zu sein vermochte. Es ist also bei zu geringem Gehalte des Urins an Eiweiss das Hinzufügen von verdünntem Hühnereiweiss nicht zu versäumen. Der Versuch I. dieser Reihe spricht auch dafür, dass das specifische Gewicht eine weniger hervorragende Rolle beim Senken der Bacillen spielt, als das Sediment, da dieser Urin doch 48 Stunden im Eisschrank gestanden hatte, bevor eine Untersuchung vorgenommen wurde.

Bei Versuch II. war auffallend, dass die Bacillen einzeln zerstreut lagen, ein Umstand, der das Auffinden derselben wesentlich erleichtert. Dieselbe Erscheinung fiel uns bei III. der IV. Versuchsreihe auf, wo nur das im Urin schon enthaltene Eiweiss benutzt wurde, und wir glauben bei unserm letzten Versuche dieses Resultat dadurch erzielt zu haben, dass wir den Harn vor dem Erwärmen gründlich durchschüttelten.

Betrachten wir zum Schluss das Gesammtresultat der mitgetheilten Versuche, so zeigt sich in der ersten Reihe derselben, wo es sich um relativ grosse Mengen von Tubercelbacillen handelt, dass zwar auch die frühere Methode, „das Einengungsverfahren", eine Erleichterung im Auffinden der Bacillen gewährt, aber dass die von uns vorgeschlagene schneller zum Ziele führt. Wo es sich um nur geringe Mengen von Bacillen handelte, wie besonders aus der IV. Versuchsreihe zu ersehen ist, zeigte sich unser Verfahren als das entschieden bessere, vermochten wir doch noch da Bacillen nachzuweisen, wo das Einengungsverfahren uns schon längst im Stiche liess.

Wir machten unsere sämmtlichen Färbungen nach dem Ziehl-Neelsen'schen Verfahren und

wollen nicht versäumen, darauf aufmerksam zu machen, dass die Präparate aus dem Sedimente ohne Hinzufügen von Eiweiss eine deutlichere Contrastfärbung zeigten, als die übrigen. Lässt man die Deckglasspräparate von dem nach unserer Methode behandelten Urin aber genügend lange Zeit in der Säure und nach der Entfärbung längere Zeit in der Methylenblaulösung liegen, was schon der eventuellen Smegmabacillen wegen von Nöten ist, so bekommt man Präparate, in denen man ohne Mühe die Tubercelbacillen erkennt.